



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Instituto de Química

Curso de Química Tecnológica

Avaliação do uso de imagens digitais obtidas por smartphones para determinação de amônia total em águas

Katharina Monteiro Plácido

Trabalho de Conclusão de Curso

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Fonseca

Brasília, Julho 2017



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Instituto de Química

Curso de Química Tecnológica

Avaliação do uso de imagens digitais obtidas por smartphones para determinação de amônia total em águas

Katharina Monteiro Plácido

Trabalho de Conclusão de Curso

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Fonseca

Monografia apresentada ao Instituto de
Química – IQ, da Universidade de Brasília – UnB,
como requisito parcial ao programa de graduação
em Química Tecnológica, para obtenção do título
de Bacharel em Química Tecnológica.

Brasília, Julho 2017

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Instituto de Química

Curso de Química Tecnológica

Monografia apresentada ao Instituto de Química – IQ, da Universidade de Brasília – UnB, como requisito parcial ao programa de graduação em Química Tecnológica, para obtenção do título de Bacharel em Química Tecnológica.

**Avaliação do uso de imagens digitais obtidas por smartphones
para determinação de amônia total em águas**

Katharina Monteiro Plácido

Professor orientador: Dr. Alexandre Fonseca

Professora: Dra. Fernanda Vasconcelos Almeida

Professor: Dr. Fábio Moreira da Silva

Brasília, Julho de 2017

*“Por que você quer tanto isso?
Porque me disseram que eu não conseguiria.”*

- Homens de Honra

Agradecimentos

O estudo aqui apresentado foi desenvolvido no *Laboratório de Instrumentação, Automação e Miniaturização Analítica* (LIAMA) do Instituto de Química da Universidade de Brasília, sob a orientação do professor Dr. *Alexandre Fonseca*, a quem exprimo meus mais profundos agradecimentos, pois desde o início mostrou grande disposição em ajudar, no acolhimento e carinho e ainda com a paciência e apoio em todas as dificuldades que esta pesquisa apresentou.

A Deus, que me deu força e perseverança para que eu conseguisse passar por todas as dificuldades que apareceram durante a graduação.

Aos meus pais, gratidão eterna! Dizer que significam tudo para mim ainda seria pouco. Honestidade, amor e comprometimento: o que me ensinaram, levarei para sempre nesta jornada. A minha irmã, Kamilla, que mesmo longe, me deu muito apoio e sempre esteve na torcida. Obrigada por serem meu norte e meu porto seguro nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos, Julliana, Pedro, Gabriela, Nayanne, Luma, Lorena, Deborah, Hiago, Val, Danielle, Elyane, que estiveram comigo na árdua, porém gratificante caminhada da graduação, trazendo alegrias aos momentos difíceis e fazendo com que os dias na Universidade fossem melhores. Aos meus colegas de laboratório, Pâmela, Taynara, Fabiana, Lucas e Camila que apesar do pouco tempo de convívio, aprendi demais com vocês. A professora Valéria e suas alunas Damiana e Jaqueline que forneceram amostras de água, contribuindo assim para a melhora da pesquisa.

A todos os familiares, mestres, amigos a quem devo quem hoje sou, muito obrigada! A jornada só é possível devido a cada um de vocês.

Lista de Abreviaturas

HSV	Matiz, saturação e valor
HSL	Tonalidade, saturação e leveza
HSI	Tonalidade, saturação e intensidade

Lista de Figuras

Figura 1. Ciclo do Nitrogênio.....	11
Figura 2. Mecanismo para detecção de amônia empregando a reação de Berthelot.	14
Figura 3. Cartela Alfakit com faixa entre 0,10 à 3 mg.L-1 N-NH3.	14
Figura 4. Módulos de extração por membrana (membranas planas) utilizada em sistemas de análise em fluxo.	15
Figura 5. Aparato montado visão superior (A), caixa removível com fita de LED (B) e Suporte para acomodar os frascos com destaque para o fundo neutro (C).....	19
Figura 6. Interface principal do aplicativo (A), Análise univariada do aplicativo (B) e modo de calibração do aplicativo (C).....	20
Figura 7. Espectro obtido pelo espectrofotômetro para o padrão de 1,0 mg L ⁻¹	23
Figura 8. Círculo de cores complementares.	24
Figura 9. Curva de calibração utilizando-se com seis padrões, na faixa de 0,1 – 3,0 mg L ⁻¹ NH ₄ ⁺ (A) e Curva de calibração utilizando-se quatro padrões, na faixa de 0,25 – 2,0 mg L ⁻¹ NH ₄ ⁺ (B).	25
Figura 10. Variação de cor para os cinco padrões utilizados para a construção da curva analítica de 0,1 – 1,0 mg L ⁻¹ NH ₄ ⁺	26
Figura 11. Curva de calibração construída a partir do método colorimétrico (A), Curva de calibração construída a partir do método espectrofotométrico de UV-Vis (B) e curva construída a partir do método fotométrico (C).	28

Resumo

Amônia total é encontrada em águas superficiais ou subterrâneas, como resultado da decomposição da matéria orgânica. Quando plantas e animais morrem, a matéria orgânica dos mesmos é consumida por bactérias que a transforma em amônia, dissolvida em águas na forma de NH_3 e NH_4^+ . A poluição doméstica, industrial e agrícola também é importantes fontes de contaminação por amônia nos sistemas aquáticos. Altas concentrações de amônia podem ter implicações ecológicas nos sistemas aquáticos. Este trabalho descreve a análise colorimétrica de amônia em águas naturais, na qual foi baseada na reação de Berthelot, método do azul de indofenol sendo as medidas realizadas pelo uso de imagens digitais, a partir de um aplicativo para smartphone (photometrix) em um ambiente de luz controlada. Foi realizado teste de fortificações de NH_4^+ a partir de amostras retiradas do Lago Paranoá. A faixa de concentração linear foi estudada a partir dos padrões de $0,1 - 3,0 \text{ mg L}^{-1}$ de NH_4^+ . Para a identificação de limites de detecção do método foi utilizado a faixa de $0,1 - 1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de NH_4^+ . Foi avaliada sua exatidão frente a métodos de referência a partir do uso de imagens digitais, utilizando-se de um espectrofotômetro comercial e com o fotômetro de LED.

Palavras-chaves: Amônia, colorimétrica, reação de Berthelot, smartphone, imagens digitais.

Abstract

Total ammonia is found in surface or groundwater as a result of the decomposition of organic matter. When plants and animals die, the organic matter is consumed by bacteria that transforms it into ammonia, dissolved in water as NH_3 and NH_4^+ . Domestic, industrial and agricultural pollution are also important sources of ammonia contamination in aquatic systems. High concentrations of ammonia may have ecological implications on aquatic systems. This work describes the colorimetric analysis of ammonia in natural waters, in which it was based on the reaction of Berthelot, indophenol blue method being the measurements made by the use of digital images, from a smartphone application (photometrix) in an environment of Controlled light. A fortification test of NH_4^+ was carried out from samples taken from Lake Paranoá. The linear concentration range was studied from 0.1 - 3.0 mg L^{-1} NH_4^+ standards. For the identification of limits of detection of the method was used the range of 0.1 - 1.0 mg L^{-1} of NH_4^+ . It was evaluated its accuracy against reference methods from the use of digital images, using a commercial spectrophotometer and the LED photometer.

Keywords: Ammonia, Colotimetric, Berthelot reaction, smartphone, digital images.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	10
1.1. Métodos para a determinação de amônia em águas naturais e efluentes	13
1.2. Imagens digitais com smartphones para determinações colorimétricas	15
2. OBJETIVOS.....	17
2.1. Objetivos Específicos:	17
3. METODOLOGIA	18
3.1. Montagem do aparato para a realização das medidas	18
3.2. Aplicativo usado para coleta de dados.....	19
3.3. Reagentes e soluções	20
3.4. Instrumentos utilizados para comparação	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1 Curva analítica e Figuras de mérito	24
5. CONCLUSÃO	31
6. BIBLIOGRAFIA.....	32

1. INTRODUÇÃO

A amônia é uma das substâncias mais empregadas e produzidas na indústria, podendo ser encontrada naturalmente nos corpos d'água como produto da degradação de compostos orgânicos e inorgânicos do solo e da água. Está presente nas águas superficiais e em baixas concentrações na água subterrânea, uma vez que as partículas do solo absorvem amônia. Ela pode se apresentar sob a forma ionizada (NH_4^+) ou não – ionizada (NH_3), a soma de suas concentrações constitui a amônia total ou nitrogênio amoniacal. Segundo Erickson *et al.*, embora alguma toxicidade possa ser atribuída à amônia ionizada, a forma da amônia não ionizada é reconhecidamente a espécie mais tóxica de amônia. Por isso que, elevações do pH ou da temperatura deslocam o equilíbrio químico no sentido da amônia não-ionizada, uma vez que o equilíbrio entre as diferentes espécies de amônia depende das características físicas e químicas dos corpos d'água.¹ A amônia é também constituinte comum no esgoto sanitário e industrial. Com o crescente aumento da contaminação dos recursos hídricos a partir de efluentes domésticos, efluentes industriais, carga difusa urbana e agrícola, tem sido observada a relação da contaminação por amônia com a mortalidade dos organismos aquáticos, prejudicando a vida selvagem. A amônia é um tóxico bastante restritivo a vida dos peixes, sendo que muitas espécies não suportam concentrações acima de 5mg L^{-1} , além disso, a amônia provoca consumo de oxigênio dissolvido das águas naturais ao ser oxidado biologicamente, reduzindo a sua concentração a níveis muito baixos. Por esses motivos, a concentração de nitrogênio amoniacal é um importante parâmetro de classificação das águas naturais e normalmente utilizada na composição de índices de qualidade das águas.²

O nitrogênio em geral, pode aparecer de diversas formas nos esgotos, desde nitrogênio orgânico, amônia, até formas mais oxidadas como nitrito e nitrato. A Figura 1 mostra o ciclo do nitrogênio a partir de produtos residuais ou degradação.



Figura 1. Ciclo do Nitrogênio

O nitrogênio presente no esgoto fresco é primeiramente transformado em amônia, pela oxidação biológica causada por bactérias em proteínas e uréia. Além disso, o nitrogênio amoniacal é formado a partir da decomposição e morte de proteína vegetal e animal, pela ação das bactérias, completando assim o ciclo.³

Os esgotos costumam ser classificados em dois grupos principais: os esgotos sanitários e os industriais. É possível destacar que os esgotos industriais, de maneira geral, são tratados por estações de tratamento de efluentes na própria indústria geradora, ou são levados para serem tratados por empresas especializadas. Assim, depois de alcançado os padrões aceitáveis pela legislação, são descartados nos corpos de água. No caso do tratamento dos esgotos domésticos, estes são feitos por empresas (privadas, públicas ou estatais) conveniadas pelas prefeituras.

Juntamente com esse despejo de efluentes vem a verificação da forma como estão presentes os compostos de nitrogênio na água residual. As determinações das espécies de nitrogênio reduzidas, correspondentes às formas orgânicas e amoniacal, são realizadas, usualmente, por titulação ácido-base, após destilação da amostra em meio básico. Entretanto, essa estratégia não permite a determinação de níveis de nitrogênio em águas inferiores a 1 mg L^{-1} .⁴

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições padrões de lançamento de efluentes. A resolução CONAMA 430/2011 estabelece o limite de $20,0 \text{ mg N.L}^{-1}$ para nitrogênio amoniacal de efluentes industriais. Já para os sistemas de tratamento de esgotos sanitários, essa

condição pode ser aplicável, ficando a critério do órgão ambiental competente, em função das características locais, não sendo exigível o padrão de nitrogênio amoniacal total. O teor de nitrogênio amoniacal total nos corpos hídricos depende da classe a que está classificada, dependendo do valor do pH da massa d'água, pode variar de 0,4 a 13,3 mg N-NH₄⁺. Por exemplo, para águas doces de Classe 2 as concentrações de nitrogênio amoniacal variam de: 3,7 mg/L N, para pH ≤ 7,5 2,0 mg/L N, para 7,5 < pH ≤ 8,0 1,0 mg/L N, para 8,0 < pH ≤ 8,5 0,5 mg/L N, para pH > 8,5 mg L⁻¹ pela Resolução CONAMA nº 357/05.⁵

A crescente necessidade de análises químicas tem exigido o desenvolvimento de métodos de análises rápidos, exatos e precisos. Ainda mais quando a espécie de interesse encontra-se em níveis muito baixos de concentração no material a ser estudado. Há diversos métodos analíticos para determinação de concentração de amônia total na solução estudada. Entre esses métodos, destacam-se os métodos colorimétricos/espectrofotométricos, os quais se baseiam na formação de compostos coloridos cuja intensidade pode ser relacionada com a concentração.

O objetivo deste trabalho é avaliar o uso de imagens digitais obtidas por smartphones para a determinação de amônia total em águas naturais, como forma de eliminar a subjetividade das medidas colorimétricas usuais ou eliminar a necessidade de uso de espectrofotômetros. Adicionalmente propõe-se a diminuição dos reagentes utilizados na análise de forma a minimizar custos e geração de resíduos. Neste contexto, pesquisas recentes têm comprovado que a imagem digital é uma boa alternativa de baixo custo, rápida, não destrutiva que permite uma avaliação e controle de qualidade dos alimentos, processos industriais, qualidade das águas com uma boa precisão.

Nos processos de tratamento biológico dos esgotos, o nitrogênio orgânico é rapidamente e quase quantitativamente, convertido em nitrogênio amoniacal. Se a nitrificação ocorre, e se houver capacidade de oxigenação suficiente, então o processo de oxidação da amônia é quase completo, deixando uma baixa concentração de nitrogênio amoniacal. Neste sentido, o desenvolvimento de um método baseado em imagens digitais, de forma simples e rápida, constituindo-se de uma ferramenta que permitiria a verificação preliminar de níveis de concentrações de amônio ou nitrogênio total tanto em águas naturais ou tratamentos de esgotos sanitários ou efluentes industriais sem a necessidade de instrumentos sofisticados e sem a subjetividade do método comparativo de cores. As análises em campo facilitariam a identificação da concentração de nitrogênio amoniacal ou amônio na amostra coletada atendendo

plenamente a legislação brasileira para concentração destas espécies em águas doces e esgoto.⁶

1.1. Métodos para a determinação de amônia em águas naturais e efluentes

Para a determinação da concentração de amônia presente em águas, os métodos mais utilizados são baseados em titulação, colorimetria, espectrofotometria e separação por membranas seguida por condutometria.

O método Kjeldahl é provavelmente o mais comum de todas as titulações ácido-base. A técnica envolve várias etapas, primeiro a amostra é digerida com ácido sulfúrico, depois eleva-se o pH da amostra digerida adicionando-se cuidadosamente hidróxido de sódio, a alteração do pH básico faz os íon amônio se converterem em amônia. Em seguida, a amônia é retirada da amostra por destilação e recolhida em um recipiente separado contendo um volume medido de uma solução ácida padrão. A quantidade de ácido que permanece nessa solução é, então, determinada por uma titulação de retorno com uma base forte. A diferença na concentração da solução ácida antes e após a destilação da amostra serve para determinar a quantidade de amônia que foi capturada.⁷

Para as análises colorimétricas/espectrofotométricas, os métodos mais utilizados baseiam-se na reação de Berthelot ou de Nessler. O método de Nessler na reação em que o potássio, o mercúrio e o iodo reagem com NH_4^+ para criar um composto de cor amarelo-acastanhado, o qual tem sua absorbância medida na faixa de 400 – 425nm. Apesar de ser um método sensível, o mesmo entrou em desuso por necessitar, frequentemente, de uma destilação da amostra para eliminar a interferência de substâncias orgânicas o que o torna a determinação relativamente lenta.⁸

Já o método de Berthelot, se baseia na formação do composto azul intenso de indofenol, resultante da reação do íon amônio com compostos fenólicos na presença de um oxidante. A Figura 2 mostra o mecanismo de reação para determinação de amônia pelo método de Berthelot. O produto final, azul de indofenol, é obtido através da reação de fenol com amônia e hipoclorito em meio alcalino, conforme as reações mostradas na Figura 2. O nitruprussiato de sódio é usualmente utilizado como catalisador uma vez que a formação da cor pode ser muito lenta. De fato, mesmo com o uso do catalisador é indicado que se aguarde cerca de duas horas para a realização das leituras instrumentais. Há relatos na literatura de que o mecanismo para a formação do indofenol é dependente da luz e temperatura.⁹

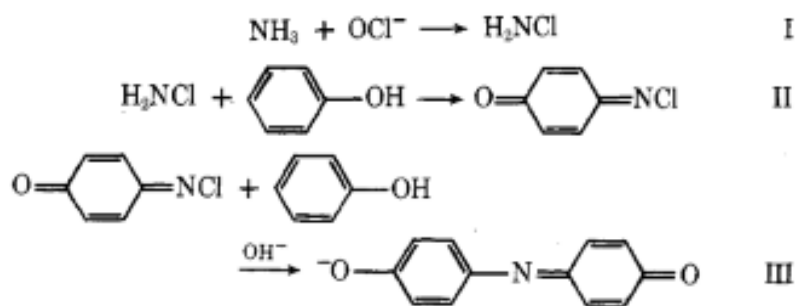


Figura 2. Mecanismo para detecção de amônia empregando a reação de Berthelot.

Deve-se destacar que existem kits comerciais para o desenvolvimento da reação de Berthelot que permitem a análise colorimétrica para a avaliação da qualidade da água para consumo humano, aquicultura, entre outros. Esses kits são muito utilizados por agentes da vigilância sanitária para o monitoramento de água em poços ou água tratada por famílias, escolas e empresas e também para o controle de qualidade da água doce. Nestes kits é realizada uma comparação visual da cor obtida para a amostra de água com os padrões impressos em uma cartela para padrões com concentrações na faixa entre 0,10 à 3,0 mg.L⁻¹ N-NH₃.¹⁰

Uma fotografia desta cartela de comparação pode ser observada na Figura 3. Como pode ser visto, esta comparação pode inviabilizar a determinação de concentrações intermediárias às estabelecidas na cartela por se tratar de um método colorimétrico que também é sujeito a subjetividade do analista.

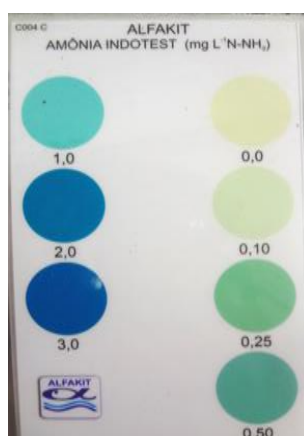


Figura 3. Cartela Alfakit com faixa entre 0,10 à 3 mg.L⁻¹ N-NH₃.

A determinação baseada na separação por membranas seguida de medidas condutométricas é normalmente realizada em sistemas de análises em fluxo como os sistemas de análise por injeção em fluxo (FIA). Nestes sistemas um volume discreto de

amostra (da ordem 300 microlitros) é injetado em um fluxo carregador contendo hidróxido de sódio e levado até uma célula de difusão gasosa que contém uma membrana hidrofóbica de separação (politetrafluoretileno-PTFE). Em meio básico favorece-se a formação de gás amônia que permeia a membrana e é recolhido por outro fluxo (aceptor) constituído por água purificada ou uma solução ácida. A mudança de condutância da solução aceptora é monitorada por um condutímetro e o sinal é relacionado à concentração de nitrogênio amoniacal total na amostra.¹¹

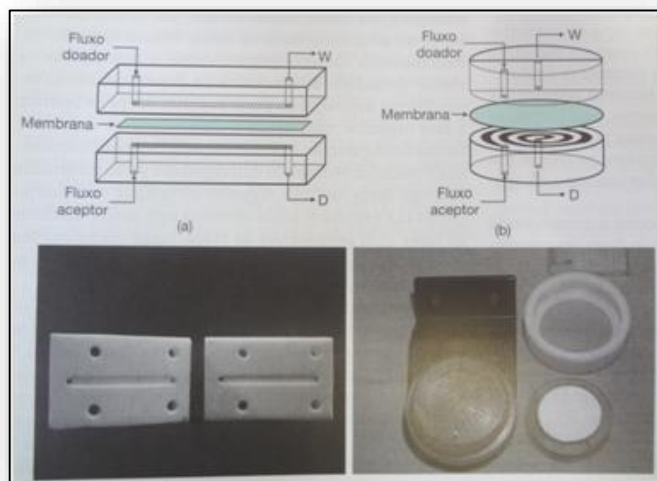


Figura 4. Módulos de extração por membrana (membranas planas) utilizada em sistemas de análise em fluxo.

1.2. Imagens digitais com smartphones para determinações colorimétricas

Com o advento das tecnologias para a aquisição e processamento de imagens em telefones celulares de última geração, chamados smartphones, tem sido possível realizar determinações colorimétricas/espectrofotométricas e fluorimétricas sem a necessidade de instrumentos analíticos com a possibilidade adicional da realização de medidas *in situ*. Um trabalho desenvolvido por Neto *et al.* descreve um método rápido, simples e de baixo custo para a classificação de águas minerais, a partir de imagens digitais de um smartphone, baseada na reação dos íon metálicos constituintes com reagente colorimétricos, as medidas são realizadas diretamente sobre a amostra complexada com o sistema RGB.¹² Oliveira *et al.* utilizou-se de imagens digitais, entre eles o sistema RGB com o emprego de uma impressora multifuncional para a classificação de solos contaminados com diferentes teores de cromo para identificação de amostras de solo com concentrações superiores aos valores estabelecidos pelas legislações internacionais, o cromo e seus compostos derivados são aplicados em

diversos processos industriais, representando um sério problema industrial.¹³ Os autores relataram que as imagens digitais mostraram boa potencialidade para serem utilizadas em modelos de classificação, principalmente por tornar possível a identificação de amostras com baixas concentrações de cromo, pois o uso de imagens digitais evita erros visuais. Torres *et al.* exploraram um método baseado no uso de imagem digital para a determinação da acidez em vinhos tintos por meio de uma titulação ácido-base sem uso do indicador ou um pré-tratamento da amostra. A metodologia proposta baseou-se nas propriedades absorventes da matriz do vinho. Dez amostras de vinho foram analisadas e os resultados foram comparados com o método de referência. Segundo os autores, o uso de imagens digitais obtidas com uma simples webcam pode servir de uma nova estratégia de titulação ácido-base para a determinação da acidez total em vinhos tintos sem a utilização de um indicador externo por ser de instrumentação barata e simples.¹⁴

Nessa estratégia, a imagem de uma região do compartimento que contém a amostra/padrão é adquirida pelo smartphone e parâmetros da imagem como as cores do sistema RGB são mensuradas e relacionadas com a concentração das espécies.

Recentemente, um grupo de pesquisas nacional desenvolveu um aplicativo de análise colorimétrica para smartphones denominado Photometrix, que permite a obtenção de valores relacionados à imagem, como os parâmetros RGB, além de realizar a calibração e a determinação da concentração do analito na amostra.

No presente trabalho de conclusão de curso, a ferramenta photometrix foi utilizada para a determinação de amônia em águas a partir do método de Berthelot e maiores detalhes sobre o funcionamento do aplicativo são descritos na seção de metodologia.

2. OBJETIVOS

O objetivo principal do presente trabalho foi avaliar a possibilidade de uso de um smartphone para a determinação de nitrogênio amoniacal em efluentes ou águas naturais empregando-se imagens digitais e o método de Berthelot.

2.1.Objetivos Específicos:

- Estudar a faixa de concentração linear
- Identificar limites de detecção do método utilizado
- Avaliar a exatidão frente a métodos de referência
- Reduzir a quantidade de reagentes empregados
- Desenvolver um ambiente de luz controlado para as medidas

3. METODOLOGIA

A análise colorimétrica de amônia em águas naturais foi baseada na reação de Berthelot, método do azul de indofenol sendo as medidas realizadas a partir de um aplicativo para smartphone (photometrix) em um ambiente de luz controlada. A seguir são apresentados a montagem do aparato para a realização das medidas, o preparo das soluções, o funcionamento básico do aplicativo e o procedimento de medida.

3.1.Montagem do aparato para a realização das medidas

Como ambiente de luz controlada para a leitura por imagens digitais, utilizou-se uma caixa preta de madeira com dimensões 19 cm x 27 cm x 12,5 cm (largura x comprimento x altura). A caixa foi confeccionada de maneira a minimizar a entrada de luz externa, de modo que o compartimento da amostra fosse exclusivamente iluminado por uma fita de diodos emissores de luz branca (LED) contendo nove emissores, a qual foi fixada na tampa da caixa preta, cerca de 13,2 cm acima do compartimento de amostra. A tampa é removível para que possa trocar os frascos a cada análise. Além disso, foi instalado um resistor variável para controle da intensidade da luz do LED, que pode variar dependendo do método de análise a ser utilizado. A Figura 5 (A) mostra o aparato completamente montado e a Figura 5 (B) mostra a tampa removível com a fita de LED.

Um suporte foi colocado na parte externa da caixa para a acomodação do smartphone, sendo confeccionado um orifício com cerca de 1,5 cm de diâmetro alinhado com a câmera do celular e também com o suporte do reservatório de amostra.

Outro suporte, para a fixação do frasco de amostra/padrão (Figura 5(C)), foi construído em ácido polilático (PLA) por uma impressora 3D (Cliever CL1), disponível no laboratório e posicionado a 8,5 cm do celular. Foi também desenvolvido um suporte em aço forrado com etil vinil acetato (EVA) de cor branca para fornecer um fundo neutro para a imagem a ser obtida.

Como reservatórios para as amostras e padrões foram utilizados pequenos frascos de vidro com volume de aproximadamente 2,5 ml, 10 mm de diâmetro externo e 4,5 cm de altura.

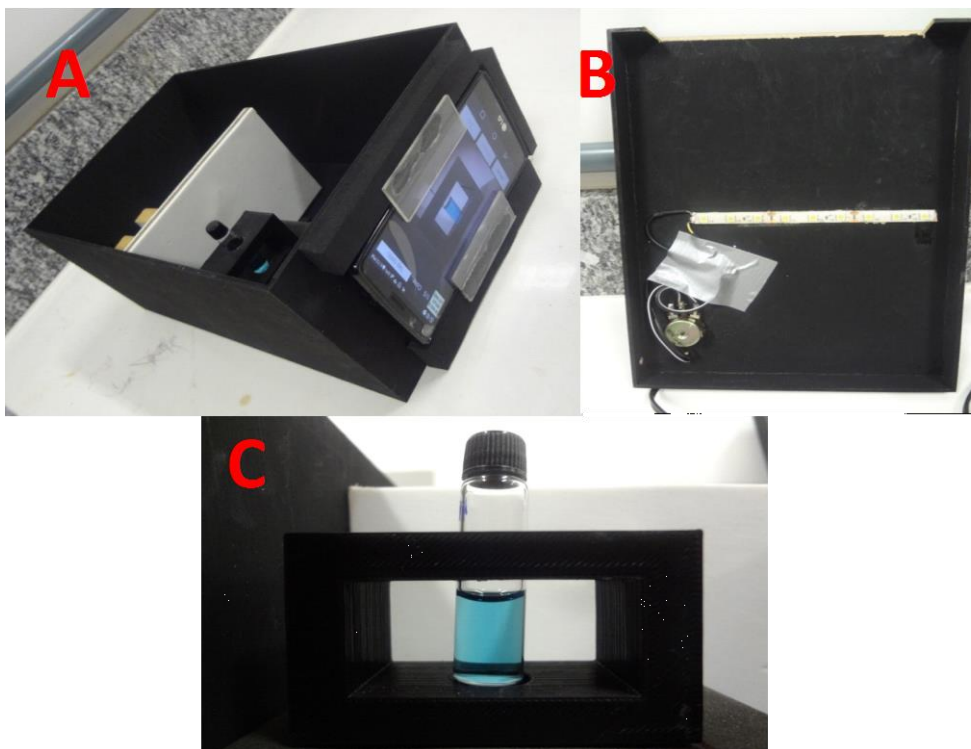


Figura 5. Aparato montado visão superior (A), caixa removível com fita de LED (B) e Suporte para acomodar os frascos com destaque para o fundo neutro (C).

3.2. Aplicativo usado para coleta de dados

O aplicativo Photometrix, recentemente desenvolvido por um grupo de pesquisa brasileiro foi utilizado para a calibração e determinação colorimétrica de amônia. Este aplicativo está disponível gratuitamente no Google Play Store para smartphones Android e Windows phone e permite a realização das medidas de forma rápida e intuitiva.¹⁵

Na interface principal do aplicativo(Figura 6(A)), no idioma inglês, inclui opções de análise univariada, análise multivariada, configuração e informações sobre o aplicativo. A análise univariada foi à utilizada no presente trabalho e permite ao usuário, após acessá-la(Figura 6(B))executar as opções de calibração, amostragem, procurar uma análise previamente salva ou ajuda.

Ao acessar a opção *calibration*, o usuário deve adicionar o número de padrões desejados para a construção da curva analítica (Figura6(C)). Após isso, o usuário deve indicar a concentração do padrão a ser medido para então realizar a medida colorimétrica da solução que já deve estar devidamente posicionada no

aparato. Terminada as medidas individuais de cada padrão, o aplicativo lista os resultados para as calibrações lineares obtidas com diferentes parâmetros de imagem (RGB, HSV, HSL e HSI). A curva escolhida pode ser enviada por e-mail para o usuário.

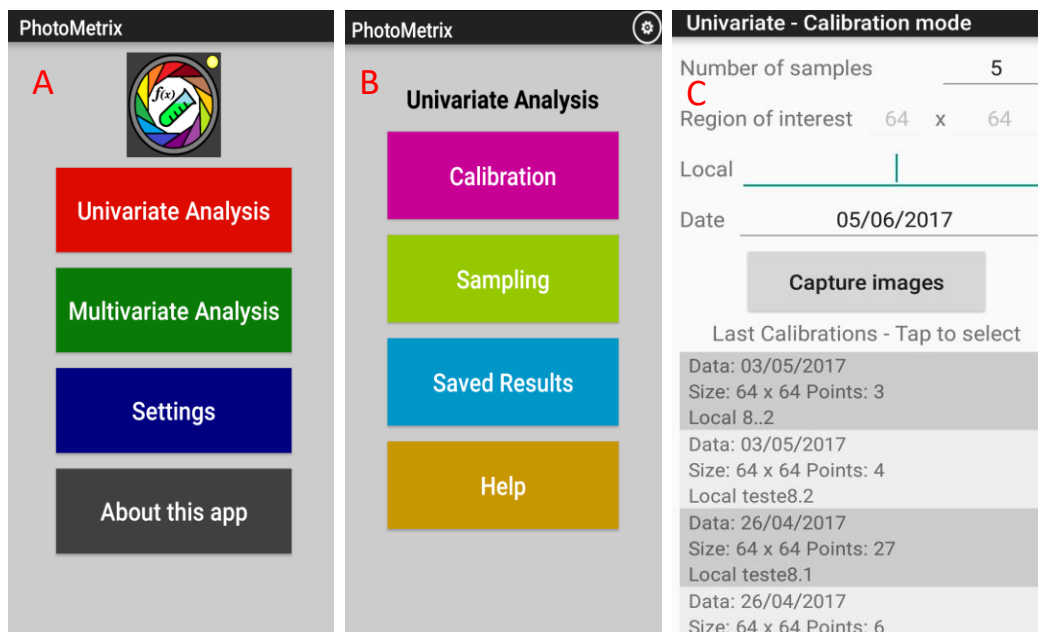


Figura 6. Interface principal do aplicativo (A), Análise univariada do aplicativo (B) e modo de calibração do aplicativo (C).

Finalizada a calibração, o usuário pode realizar a medida da concentração na amostra a partir de um modelo de calibração previamente selecionado. Nesse caso, o usuário deve acessar a função *sampling* e realizar a medida de forma semelhante à realizada com os padrões. O aplicativo fornece ao final da leitura a concentração do analito na amostra diluída. O celular equipado com câmera fotográfica utilizado para as medições possui resolução de 15Mp.

3.3.Reagentes e soluções

Todas as soluções utilizadas nesse trabalho foram preparadas em água purificada por osmose reversa. Reagentes de grau analítico com pureza superior a 98% foram utilizados na maioria dos estudos, para reagentes com pureza diferenciada foi realizada a indicação na descrição do preparo.

Uma solução estoque de 100 mg L⁻¹ de NH₄⁺ foi preparada a partir da dissolução de 0,1571 g de NH₄Cl (VETEC, teor 99,5%) em água em um balão

volumétrico de 500 mL. Padrões de concentrações variando entre 0,1-3,0 mg.L⁻¹ de amônio foram preparados pela diluição de alíquotas da solução estoque em água.

Os reagentes colorimétricos para a determinação de amônia total pelo método de Berthelot foram preparados seguindo a descrição de Jean-Pierre C..¹⁵ Uma solução fenólica, denominada reagente 1, foi preparada em balão volumétrico de 100 mL, dissolvendo-se 8 g de fenol em etanol. A solução do reagente 2 foi preparada pela mistura de volumes iguais de uma solução aquosa de citrato de sódio em meio básico com uma solução aquosa de Trione (ácido dicloroisocianurico sob forma de sal de sódio dihidratado). Para o preparo da solução de citrato de sódio, 40 g do sal (VETEC 99%) foram misturados a 3,2 g de hidróxido de sódio (Sigma Aldrich, teor 98%) e dissolvidos com 50 mL de água em um béquer. Essa mistura foi então aquecida em uma chapa de aquecimento até a total dissolução dos sais e eliminação de possíveis traços de amônio. Posteriormente a solução resultante foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL sendo o volume aferido com água. A solução de trione foi preparada pela dissolução de 0,1 grama do sal de sódio dihidratado do ácido dicloroisocianurico(VETEC 99%) em balão volumétrico de 25 mL em água.

Por último, um terceiro reagente (reagente 3) foi preparado em um balão volumétrico de 50 mL, dissolvendo-se 0,25 g de nitroprussiato de potássio (VETEC 99%) em água. Após o preparo todos os reagentes foram armazenados em frascos de vidro escuro e na geladeira.

Nesse estudo, foram coletadas amostras de água do lago Paranoá de três pontos diferentes. Todas as amostras consistiam de águas superficiais dos locais: Deck Asa-Norte, Pier 21 L4 sul e Pontão do lago sul. Após a coleta, as amostras foram filtradas em papel de filtro quantitativo e analisadas no mesmo dia de coleta.

Considerando a possibilidade das amostras apresentarem concentrações muito baixas de amônia total, estudos de recuperação foram realizados pela fortificação das amostras coletadas. Para cada ponto estudado, foram realizadas fortificações das amostras de forma a proporcionar concentrações da ordem de 0,35 mg L⁻¹ e 0,7 mg L⁻¹. Para isso, alíquotas adequadas da solução estoque de amônio foram transferidas para balões volumétricos de 25 mL, os quais foram avolumados com as próprias amostras.

Para o desenvolvimento da reação colorimétrica, 1,00 mL de cada amostra ou dos padrões foram transferidos para os frascos de medidas e adicionados, na ordem, de 50 µL de solução fenólica (reagente 1), 100 µL de solução de citrato/trione (reagente 2) e 100 µL de solução de nitroprussiato de sódio (reagente 3). É importante destacar que,

entre cada adição de reagente, as amostras/padrões foram agitadas para a homogeneização. Após a mistura, as soluções foram protegidas da luz por aproximadamente 2 horas antes da realização das leituras.

3.4. Instrumentos utilizados para comparação

Nesse estudo, foram utilizados também os equipamentos espectrofotômetro e o fotômetro. As medidas fotométricas são realizadas com instrumento *lab-made* construído a partir de um Led vermelho (635 nm) como fonte de radiação e um fotoresistor LDR (Light Dependent Resistor) como detector. Já o instrumento espectrofotômetro possui fonte Ocean Optics USB-2000, com comprimento de onda 630 nm de luz visível com lâmpada de filamento de tungstênio e halogênio. Para ambas as medidas foram adaptadas um suporte para se realizar as medidas com o mesmo frasco de amostra utilizado para as imagens digitais.

4. RESULTADOSE DISCUSSÃO

Os métodos colorimétricos/espectrofotométricos baseados na reação de Berthelot consistem na reação entre Amônia, fenol e hipoclorito em meio alcalino, seguido pela formação do indofenol de cor azul conforme indicado na Figura 1. É importante destacar, entretanto, que o hipoclorito de sódio é um reagente que apresenta baixa estabilidade, de modo que sua concentração em cloro ativo tende a diminuir que acaba dificultando o seu uso em análises periódicas. Nesse sentido, o hipoclorito tem sido substituído por soluções de sal de sódio de dicloro-S-Triazina-2,4,6-triona (ácido dicloroisocianúrico) popularmente conhecido por trione, o qual apresenta maior estabilidadee, por isso, foi utilizado no desenvolvimento desse trabalho.¹⁷

A Figura 7 mostra o espectro obtido para uma solução de azul de indofenol obtido a partir de uma solução padrão de amônio com concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$. Como pode ser observado o máximo de absorção ocorre no comprimento de onda de 631 nm, o que mostra que o produto absorve radiação correspondente a cor vermelha/alaranjada (cor complementar, Figura 8). De fato, como será discutido mais adiante, a resposta instrumental por imagens digitais se deu pela variação da componente R do sistema RGB. Além disso, o LED utilizado no fotômetro apresenta máximo de emissão muito próximo de 631 nm (630 nm), o que permitiu a realização das medidas com esse instrumento.

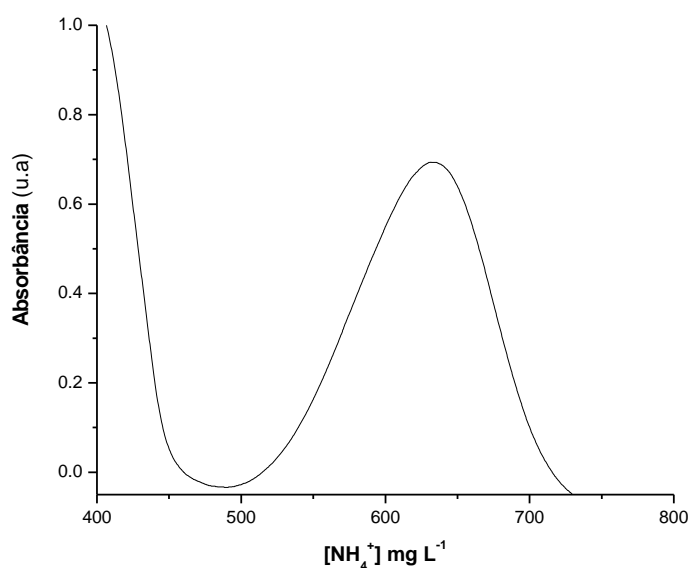


Figura 7. Espectro obtido pelo espectrofotômetro para o padrão de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$.

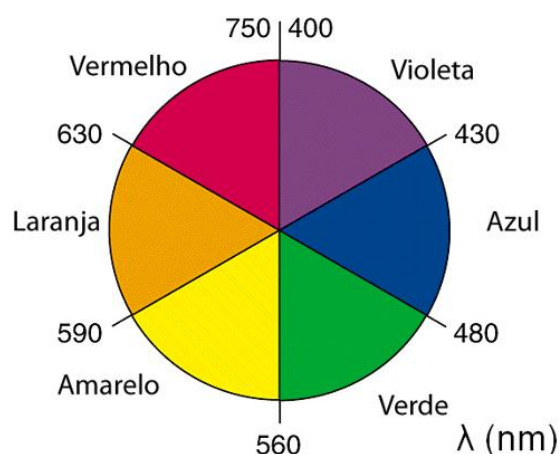


Figura 8. Círculo de cores complementares.

4.1 Curva analítica e Figuras de mérito

Inicialmente foi avaliada uma faixa mais ampla de concentrações de forma a estabelecer a região linear da calibração. As curvas foram obtidas a partir do método colorimétrico, pelo sistema RGB. A Figura 9 (A) mostra o sistema calibrado utilizando-se seis padrões na faixa de concentração de 0,1 – 3,0 mg L⁻¹ de NH₄⁺. Desta calibração obteve-se uma equação linear descrita por $y = 36,9379x + 93,8009$ e coeficiente de quantificação $R^2 = 0,988$. Uma perda de linearidade é observada em padrões com concentrações maiores que 2,0 mg L⁻¹ e menores que 0,25 mg L⁻¹. Retirando-se os pontos das extremidades, as concentrações 0,1 e 3,0 mg L⁻¹, a linearidade aumenta de forma que se poderia afirmar que o método é linear entre 0,25 e 2,0 mg L⁻¹, como pode ser visto na Figura 9 (B) que possui a equação $y = 41,1874x + 94,0821$ com coeficiente de quantificação $R^2 = 0,998$. Entretanto, como será mostrado mais adiante, alterando-se a intensidade de luminosidade do ambiente, pode-se tornar o método mais linear para concentrações mais baixas ou mais altas respeitando as concentrações entre 0,1 e 3,0 mg L⁻¹.

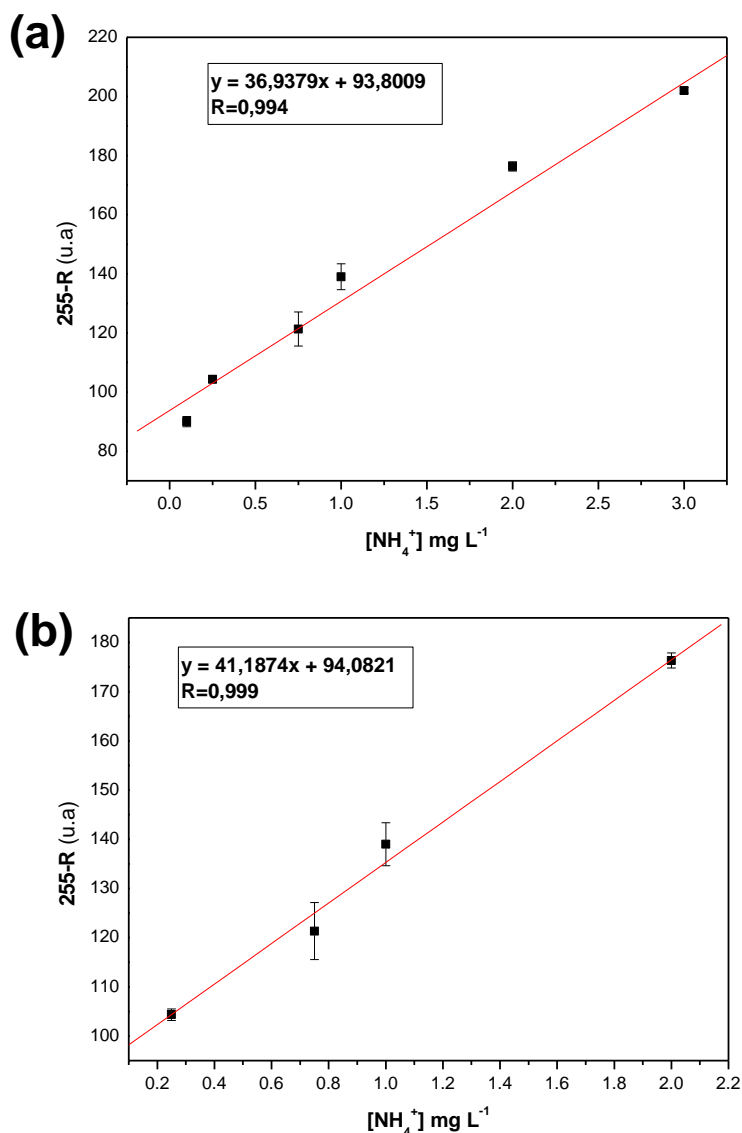


Figura 9. Curva de calibração utilizando-se com seis padrões, na faixa de 0,1 – 3,0 mg L⁻¹ NH₄⁺ (A) e Curva de calibração utilizando-se quatro padrões, na faixa de 0,25 – 2,0 mg L⁻¹ NH₄⁺ (B).

Devido ao interesse em se determinar concentrações menores, realizou-se um ajuste de iluminação da câmara de leitura de forma a realizar as medidas na faixa de concentração de 0,1 – 1,0 mg L⁻¹ de NH₄⁺. Como mostrado na Figura 10, é possível identificar o aumento da tonalidade da cor azul a partir do acréscimo da concentração, permitindo assim a calibração baseada em imagens digitais. Para fins de comparação, a mesma faixa de concentração foi avaliada para construção de curvas analíticas com o celular, espectrofotômetro e fotômetro.

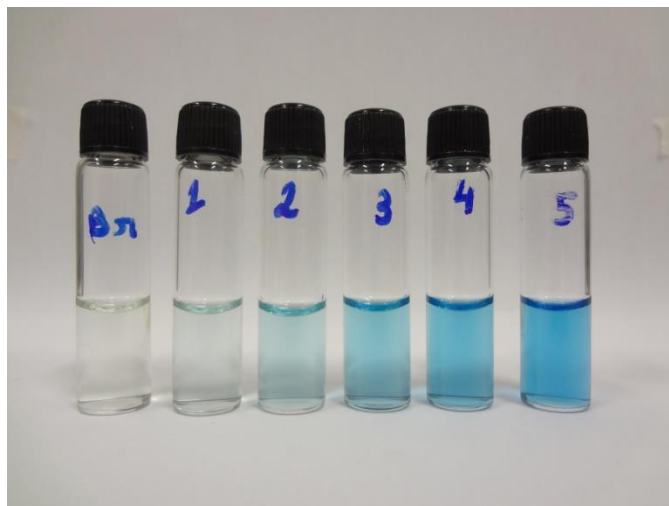


Figura 10. Variação de cor para os cinco padrões utilizados para a construção da curva analítica de $0,1 - 1,0 \text{ mg L}^{-1} \text{ NH}_4^+$.

Para o método colorimétrico, a partir do sistema RGB obteve-se uma equação $y = 110,587x + 77,624$ e um coeficiente de correlação $R^2 = 0,994$ para os cinco pontos avaliados como mostrado na Figura 11 (A). Deve-se destacar que, para a obtenção desta curva analítica foi necessário diminuir a intensidade luminosa da câmera de leituras de forma a permitir a leitura de padrões com uma faixa de concentração menor que aquela indicada na curva da Figura 9. Baseado no valor do intercepto da curva mais três vezes o seu desvio padrão, calculou-se o limite de detecção, o qual foi estimado em $0,04 \text{ mg L}^{-1} \text{ NH}_4^+$ ($0,03 \text{ mg L}^{-1} \text{ N}$) como mostrado na Tabela 1. Este valor é bastante inferior ao estabelecido pela resolução CONAMA 357/2005 como limite de concentração de nitrogênio amoniacal em águas doces ($0,38 \text{ mg L}^{-1} \text{ NH}_4^+$ ou $0,5 \text{ mg/L N}$), o que indica que a estratégia adotada pode ser utilizada para a determinação. A precisão das medidas foi também avaliada com base no coeficiente de variação para três leituras do padrão de maior concentração ($1,0 \text{ mg L}^{-1} \text{ NH}_4^+$) sendo estimado em 2,2 %.

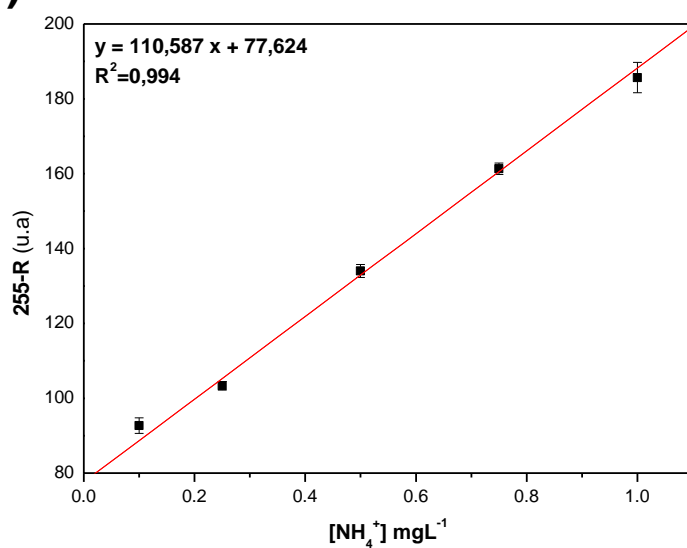
A Figura 11 (B) mostra a curva de calibração construída a partir do método espectrofotométrico com um instrumento comercial. De fato, para as medidas realizadas com o espectrofotômetro foi necessário adaptar um suporte que permitisse a realização das medidas com os mesmos frascos que foram utilizados para as medidas com o celular. Ainda assim, a curva analítica apresentou uma linearidade ($R^2 = 0,994$) similar ao do método com o celular com os mesmo cinco padrões. O limite de detecção para o método espectrofotométrico foi estimado em $0,03 \text{ mg L}^{-1} \text{ NH}_4^+$, valor que é semelhante ao obtido com a medida digital.

A Figura 11 (C) mostra a curva de calibração construída a partir do método fotométrico, com LED e foto-resistor. Para esse caso, a curva analítica apresentou uma

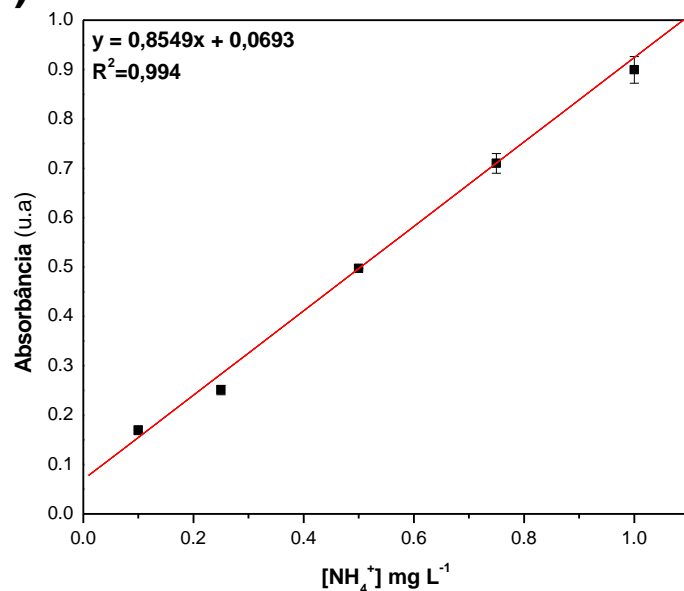
linearidade ($R^2 = 0,998$) similar ao do método com o celular, com os mesmos cinco padrões. O limite de detecção ($0,07 \text{ mg L}^{-1}\text{NH}_4^+$) obtido com o método fotométrico foi também semelhante ao obtido com a medida digital. Todas as calibrações foram realizadas em triplicata e no mesmo dia.

A Tabela 2 mostra também os valores de precisão para as leituras com os diferentes instrumentos e indicam que as variações encontradas para as medidas realizadas com o celular são semelhantes às aquelas obtidas com os outros instrumentos.

(a)



(b)



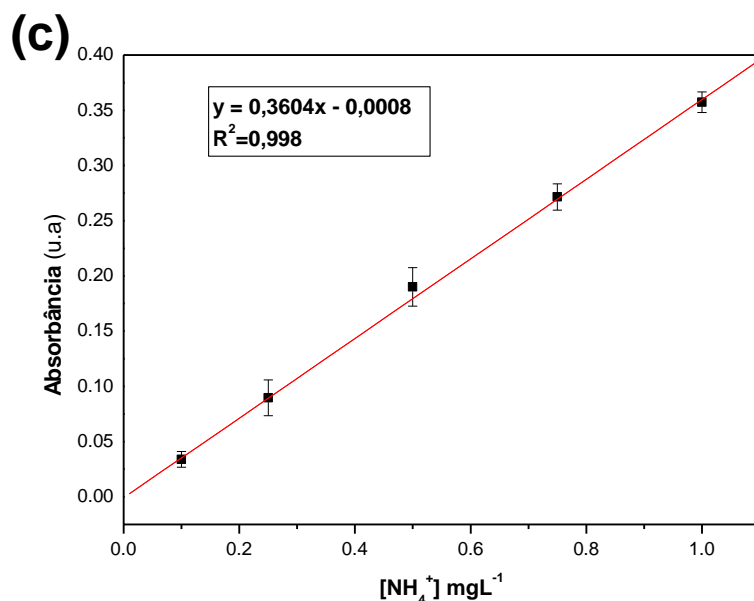


Figura 11. Curva de calibração construída a partir do método colorimétrico (A), Curva de calibração construída a partir do método espectrofotométrico de UV-Vis (B) e curva construída a partir do método fotométrico (C).

Tabela 1. Coeficiente de correlação obtido dos três métodos, juntamente com seu limite de detecção.

Método	R^2	Limite de detecção
Colorimétrico	0,994	0,04
Espectrofotômetro	0,994	0,03
Fotômetro	0,998	0,07

Tabela 2. Valores obtidos do coeficiente de variação, em triplicata, do padrão de 1 mg L^{-1} dos três métodos.

Método	Coeficiente de variação (%)
Colorimétrico	2,3
Espectrofotômetro	3,0
Fotômetro	2,6

Para avaliar a exatidão do método colorimétrico com o celular foi realizado um teste de recuperação com dois diferentes níveis de concentração do analito. Adicionalmente, as mesmas medidas foram realizadas com o espectrofotômetro comercial e com o fotômetro de LED.

A Figura 12 mostra fotografias das três amostras não fortificadas e fortificadas após o desenvolvimento da reação colorimétrica. Como pode ser observado, todas as amostras não fortificadas levaram ao desenvolvimento de cor, demonstrando que estas amostras continham amônia na faixa de concentração avaliada. Observa-se ainda que, as

amostras fortificadas apresentaram aumento da intensidade de cor com o aumento da concentração de amônia usada na fortificação.

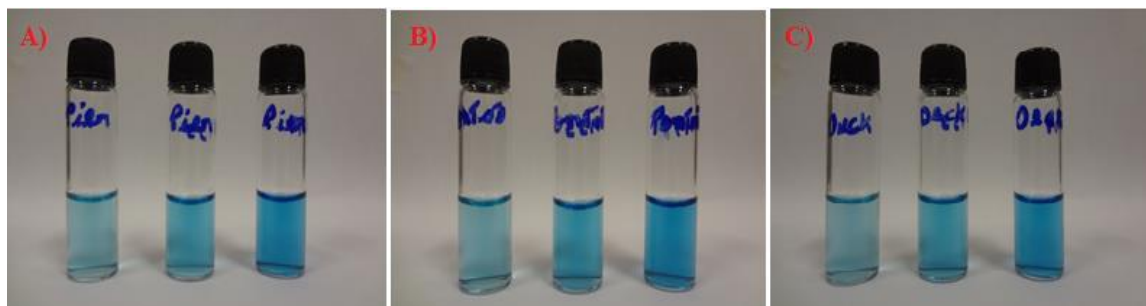


Figura 12. Amostras do Pier 21 sem ser fortificada, fortificada com de $0,35 \text{ mg.L}^{-1}$ e $0,7 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente (A), Amostras do Pontão sem ser fortificada, fortificada com de $0,35 \text{ mg.L}^{-1}$ e $0,7 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente (B) e Amostras do Deck sem ser fortificada, fortificada com de $0,35 \text{ mg.L}^{-1}$ e $0,7 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente (C).

Avaliando-se os dados apresentados nas Tabelas 3 e 4, observa-se que os resultados obtidos com o espectrofotômetro comercial apresentaram as maiores diferenças em relação aos dados colhidos com o smartphone e com o fotômetro para as amostras não fortificadas. Possivelmente, a dificuldade relatada anteriormente com relação à improvisação do sistema de medida tenha levado a essas diferenças (erros maiores que 20% para as amostras não fortificadas) o que deverá ser avaliado no futuro utilizando-se um sistema de medida usual com cubeta de vidro e suporte convencional. Vale ressaltar, entretanto, que os frascos fechados minimizam o contato do analista com a solução fenólica, a qual proporciona a reação colorimétrica, diminuindo os riscos de contato com esta substância. Na comparação dos resultados entre o sistema proposto e o fotômetro de LED, observa-se que para seis das nove amostras analisadas (fortificadas e não fortificadas) foram observados erros relativos inferiores a 10 % e que flutuaram acima e abaixo do valor de referencia indicando a ausência de erros sistemáticos nas leituras. Deve-se destacar ainda que mesmo com erros relativos elevados (maiores que 15 %), como o observado para a amostra coletada no Pier fortificada com $0,35 \text{ mg L}^{-1}$ de NH_4^+ , o erro absoluto para essa amostra é de apenas $0,12 \text{ mg L}^{-1}$ o que corresponde a três vezes o limite de detecção do método e é inferior ao seu limite de quantificação 0,13, calculado como o valor do intercepto adicionado de 10 vezes o seu desvio padrão.¹⁸

Tabela 3.Concentrações das amostras de $[\text{NH}_4^+]$ para cada método analítico estudado, juntamente com seu desvio padrão.

Amostras (mg.L^{-1})	RGB	Fotômetro	Espectrofotômetro
Pier	0,43±0,02	0,39±0,07	0,40±0,01
0.35	0,78±0,02	0,83±0,05	0,66±0,005
0.7	1,09±0,02	1,17±0,07	1,03±0,01
Pontão	0,45±0,01	0,44±0,08	0,47±0,003
0.35	0,81±0,02	0,89±0,04	0,83±0,01
0.7	1,11±0,03	1,26±0,04	1,14±0,01
Deck	0,35±0,03	0,38±0,06	0,47±0,004
0.35	0,66±0,003	0,78±0,05	0,73±0,005
0.7	0,99±0,008	1,12±0,04	1,04±0,01

Tabela 4. Erro relativo das amostras de água superficial fortificadas com NH_4^+ .

Amostras (mg.L^{-1})	RGB vsFotômetro(%)	RGB VsEspectrofotômetro(%)
Pier	9,40	7,5
+ 0.35	-6,11	18
+ 0.7	-7,03	6
Pontão	3,35	-4,2
+ 0.35	-7,94	-2,4
+ 0.7	-11,70	-2,7
Deck	-8,80	-25
+ 0.35	-15,96	-9,6
+ 0.7	-11,37	-4,8

Aos resultados obtidos aplicou-se o teste t pareado para comparação do método colorimétrico e o espectrofotométrico, a um nível de confiança 95% com $N=8$ e obteve-se 2,90 como t calculado. Quando comparado ao valor de t tabelado (2,30) a hipótese nula foi rejeitada, indicando que os dois métodos fornecem resultados diferentes. Porém, erros absolutos para as amostras não apresentaram variações discrepantes, tendo como maior erro absoluto $0,12 \text{ mg L}^{-1}$, valor este que corresponde a três vezes seu limite de detecção e é inferior ao seu limite de quantificação $0,10$, com isso a hipótese nula seria aceita a um nível de 99% de confiança ($t_{\text{tab}}=3,35$).

A comparação do fotômetro com o espectrofotômetro, o erro absoluto de uma das amostras chega a 0,17 mg L⁻¹, como pode ser visto na amostra Pier fortificada com 0,35, valor este que corresponde a duas vezes o limite de detecção do método e é inferior ao seu limite de quantificação 0,21.

Tabela 5. Recuperações do método colorimétrico para as amostras de água superficial fortificadas com NH₄⁺, juntamente com o valor de concentração encontrado.

Amostras	Valor Esperado (mgL⁻¹)	Valor Encontrado (mg L⁻¹)	Recuperação (%)
Pier	0,35	0,35	100,70%
Pier	0,7	0,66	93,87%
Pontão	0,35	0,36	103,34%
Pontão	0,7	0,66	93,44%
Deck	0,35	0,31	87,82%
Deck	0,7	0,64	92,14%

O teste de recuperação foi calculado a partir da seguinte relação:

$$\% \text{ rec.} = \frac{\text{concentração amostra fort.} - \text{concentração amostra original}}{\text{concentração esperada correspondente à fortificação}} \times 100$$

As recuperações e concentrações esperadas de NH₄⁺ obtidas para as amostras de água fortificadas (0,35 mg.L⁻¹ e 0,7 mg.L⁻¹) são mostradas na Tabela 5. As recuperações obtidas para a determinação de NH₄⁺ variaram entre 87,82 % e 103,34 % demonstrando boa exatidão do método colorimétrico. As concentrações encontradas correspondem de seis a dezesseis vezes do limite de detecção do método (Tabela 1), além disso, as concentrações encontradas estão acima do limite de quantificação 0,13. Variações nos valores de concentração esperado podem ter sido ocasionados por processos bioquímicos, reduzindo assim sinais de absorbância na análise das amostras.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos a partir dos estudos reportados nesta dissertação permitem concluir que a identificação de amônia total ou amônio em águas naturais pode ser realizada de forma simples e eficiente empregando-se medidas colorimétricas

obtidas de um aplicativo para smartphone sem a necessidade de instrumentos sofisticados e sem a subjetividade do método comparativo de cores.

A estratégia proposta neste trabalho poderá ser utilizada no futuro como ferramenta para a verificação preliminar de concentrações de amônia total em águas naturais ou efluentes industriais, assim como esgotos sanitários atendendo plenamente a legislação brasileira para concentração destas espécies em águas doces e esgoto. Entretanto, modificações no próprio sistema, como aumento do caminho óptico deverão ser realizadas para que o mesmo possa ser realizado como uma ferramenta mais sensível para o monitoramento das águas.

O método proposto proporciona uma redução de 50 % dos reagentes e na geração de resíduos comparando-se com o descrito a partir da literatura utilizada para a preparação dos reagentes, de modo que está proposta poderá ser utilizada como forma atender os requisitos da química verde.¹⁵

6. BIBLIOGRAFIA

[1] Erickson R.J..An evaluation of mathematical models for the effects of ph and temperature on ammonia toxicity to aquatic organisms. *W.Research*, 19: 1047-1058,1985.

[2] Reis J. A. T, Mendonça A. S. F. “Análise técnica dos novos padrões brasileiros para amônia em efluentes e corpos d’água.” V. 14 n.3, p. 353-362, 2009.

[3] Pessoa, A. C.; Jordão, P. E. Tratamento de esgotos domésticos. Rio de Janeiro, Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1982.

[4] Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA, AWWA, and WPCF, Washington, 18th Ed., 1975.

[5] BRASIL. Resolução CONAMA nº 397/2008, de 3 de abril de 2008. Altera o inciso II do parágrafo 4o e a Tabela X do parágrafo 5º, ambos do art. 34 da Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA nº 357, de 2005, que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Diário Oficial da União, p. 68-69, 7 de abril de 2008.

[6] Bueno R. F., Avaliação da nitrificação e desnitrificação simultânea em estação de tratamento de esgoto em escala real. Dissertação de doutorado, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2016.

[7] Hage D. S., Carr J. D., Química Analítica e Análise Quantitativa, 2012.

[8] Jeong H., Park J. and kim H., “Determination of NH_4^+ in Environmental Water with Interfering Substances Using the Modified Nessler Method,” *J. Chem.*, vol 2013.

[9] Palton C. J., Crouch S. R., Spectrophotometric and Kinetics Investigation of the Berthelot Reaction for the Determination of Ammonia, *An. Chem*, vol. 49, No. 3, 1977.

[10] <<http://www.alfakit.ind.br/>>(Acesso em 8 de abril de 2017)

[11] Staden J. F V., Taljaard R.E..Determination of ammonia in water and industrial effluent streams with the indophenol blue method using sequential injection analysis. Department of Chemistry, University of Pretoria. Pretoria 0002, South Africa. P. 281-289, 1997.

[12] Lourival C. F..Determinação Condutométrica de amônia em digeridos de kjeldahl, água e solos por análise por injeção em fluxo. Tese de mestrado, 1987.

[13] Neto G. F. S., Fonseca A., Braga J. W. B., Classificação de Águas Minerais Baseada em Imagem Digitais Obtidas por Smartphone, *quim nova*, vol 39, No.7, 876-881,2016.

[12] Oliveira, L. F.; Canevari, N. T.; Jesus, A. M. D.; Pereira-Filho, E. R.; Revista Virtual de Química, 5, 169, 2013.

[14]Torres A. R., Lyra W. S., Andrade S. I. E., Andrade R. A. N., Silva E. C., Araujo M. C. U., andGaiao E. N..A digital image-based method for determining of total acidity in red wines using acid - base titration without indicator. *Talanta*, 84(3):601 – 606, 2011.

[15] Helfer G. A.,Magnus V. S.,Böck F. C., Teichmann A.,Ferrão M. F. and Costa A. B.,PhotoMetrix: An Application for Univariate Calibration and Principal Components Analysis Using Colorimetry on Mobile Devices.*J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 28, No. 2, 328-335, 2017.

[16] Jean-Pierre C. O Metabolismo dos Ecossistemas Aquáticos Fundamentos teóricos, métodos de estudo e análises químicas. Editora: FAPESP. P. 168-173

[17] Ivancic I.; DegobbisD..An Optimal Manual ProceureFor Ammonia Analysis in Natural Waters By The Indophnel Blue Method. Water Res. Vol.18. No 9.,1143-1147, 1984.

[18] Miller, J. C.; Miller, J. N *Statistics for Analytical Chemistry*, 1993.